

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2002-316946
(P2002-316946A)

(43) 公開日 平成14年10月31日 (2002. 10. 31)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード [*] (参考)
A 6 1 K 41/00		A 6 1 K 41/00	4 C 0 7 6
	9/14		4 C 0 8 4
	33/24		4 C 0 8 6
A 6 1 M 37/00		A 6 1 M 37/00	4 C 1 6 7
A 6 1 P 35/00		A 6 1 P 35/00	4 G 0 6 9
審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 7 頁) 最終頁に続く			

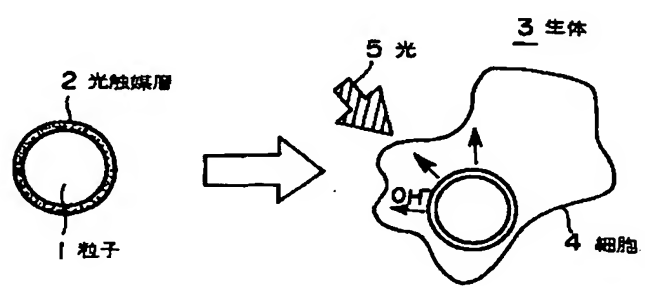
(21) 出願番号	特願2001-120978(P2001-120978)	(71) 出願人	396020800 科学技術振興事業団 埼玉県川口市本町4丁目1番8号
(22) 出願日	平成13年4月19日 (2001. 4. 19)	(71) 出願人	591243103 財団法人神奈川科学技術アカデミー 神奈川県川崎市高津区坂戸3丁目2番1号
		(72) 発明者	窪田 吉信 神奈川県横浜市金沢区六浦町1697-28
		(72) 発明者	藤嶋 昭 神奈川県川崎市中原区中丸子710-5
		(74) 代理人	100091384 弁理士 伴 俊光
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 光触媒の生体内への注入方法ならびに生体内への打ち込み粒子およびその製造方法

(57) 【要約】

【課題】 光触媒を生体内の目標とする部位に効率よく注入できる新規な方法と、それに用いる生体内への打ち込み粒子およびその製造方法を提供する。

【解決手段】 粒子の表面に光触媒を担持させ、該光触媒担持粒子を生体内に打ち込むことを特徴とする光触媒の生体内への注入方法、および、生体内への打ち込み粒子とその製造方法。



BEST AVAILABLE COPY

【特許請求の範囲】

【請求項1】 粒子の表面に光触媒を担持させ、該光触媒担持粒子を生体内に打ち込むことを特徴とする、光触媒の生体内への注入方法。

【請求項2】 光触媒担持粒子を生体の患部に打ち込む、請求項1の光触媒の生体内への注入方法。

【請求項3】 比重が4.54～21.45の範囲にある粒子の表面に、光触媒層を設けたことを特徴とする生体内への打ち込み粒子。

【請求項4】 粒子が金粒子からなる、請求項3の生体内への打ち込み粒子。

【請求項5】 光触媒層が酸化チタンからなる、請求項3または4の生体内への打ち込み粒子。

【請求項6】 生体内に打ち込み可能な粒径の粒子の表面に、光触媒をコーティングすることを特徴とする、生体内への打ち込み粒子の製造方法。

【請求項7】 コーティング層を酸化物のゾルを用いて形成する、請求項6の生体内への打ち込み粒子の製造方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】本発明は、光触媒の生体内への注入方法ならびに生体内への打ち込み粒子およびその製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、各種産業分野において、酸化チタン等の光触媒による有機物等の分解作用の利用が目目されている。この光触媒による分解作用は、新しい医療や、その開発、研究等のための生体実験等の分野においても、新しい応用が期待できる可能性がある。たとえば、光照射により酸化チタンの表面に励起される強い反応を利用すると、癌細胞の殺細胞効果や動物実験における抗腫瘍効果が期待され、それら効果を発揮させる新しい治療の開発に展開できる可能性があり、さらにその新しい治療に使用するための医療材料や医療器械の開発に展開できる可能性がある。

【0003】光触媒による光触媒活性を生体内で有効に発揮させるためには、光触媒を生体の表面に存在させるだけでは不十分と考えられ、生体内の目標とする部位、たとえば患部の細胞内に存在させることが必要であると考えられる。しかし、このような観点から、光触媒の生体内への応用を考慮したものは見当たらない。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】そこで本発明の課題は、光触媒を生体内の目標とする部位に効率よく注入できる新規な方法と、それに用いる生体内への打ち込み粒子およびその製造方法を提供し、細胞内で所望の光触媒反応を起こさせることを可能として、新しい治療やそれに伴う産業の開発を可能ならしめることにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するために、本発明に係る光触媒の生体内への注入方法は、粒子の表面に光触媒を担持させ、該光触媒担持粒子を生体内に打ち込むことを特徴とする方法からなる。とくに、この光触媒担持粒子は、生体の患部、なかでも患部の細胞内に打ち込むことができる。打ち込みには、既に、遺伝子を打ち込むことが可能な装置として実用化されている、遺伝子銃などの遺伝子導入装置を利用することができる（たとえば、（株）日本医科器械製作所製のハンマー弾式遺伝子導入装置やBIO-RAD社製のHELIOS GENE GUN）。

【0006】また、本発明に係る生体内への打ち込み粒子は、比重が4.54～21.45の範囲にある粒子の表面に、光触媒層を設けたことを特徴とするものからなる。この比重は、比重4.54のチタンから、比重21.45の白金までの材質の比重範囲を規定したものである。つまり、本発明における打ち込み粒子としては、たとえば皮膚等の内部まで効果的に打ち込むために、ある程度比重の大きいものが好ましい。とくに安全性の面からは、上記比重範囲にある粒子の中でも、金粒子を用いることが好ましい。

【0007】所望の光触媒機能を持たせることが可能な光触媒として、酸化チタン、酸化すず、酸化亜鉛等を用いることができるが、安全性および優れた光触媒機能の面から、特に酸化チタンを用いることが好ましい。

【0008】本発明に係る生体内への打ち込み粒子の製造方法は、生体内に打ち込み可能な粒径の粒子の表面に、光触媒をコーティングすることを特徴とする方法からなる。粒子の表面への光触媒の担持は、コーティング以外の方法でも可能であるが、極力多量の光触媒を脱落させることなく、かつ、所定量容易に担持させるためには、コーティングによるのが最も適当である。コーティング層は、酸化物のゾルを用いることにより容易に形成できる。たとえば粒径数十ナノメートル程度の、光触媒機能を発揮可能な酸化物のゾルを用いてコーティング層を形成する。

【0009】光触媒をコーティングする粒子の粒径は、前述のような遺伝子導入装置を用いて生体内に打ち込み可能な粒径である限り特に限定しないが、たとえば金粒子の場合、0.5～2μm程度の粒径の粒子を容易に入手することができ、それを光触媒担持用粒子として使用できる。

【0010】コーティング層を形成する光触媒コーティング材の量については、粒子に対する被覆率が20%以上100%以下が好ましい。ここで粒子に対する被覆率とは、1粒子当たりの粒子の全表面積に対するコーティング材による被覆割合を言う。したがって、被覆率が100%になると、粒子の全表面がコーティング材で覆われたことを意味するが、本発明においては、被覆率が100%になった時点からさらにコーティングを続行す

ることによりコーティング量が増加した場合の状態も、被覆率の延長の定量値として、被覆率100%以上の値で表すことにする。被覆率が20%未満では、光触媒機能を発揮可能な光触媒層の面積が少なくなりすぎ、100%を超えると、コーティング層自身が脱落するおそれがある。後述の試験では、酸化チタンコーティング層について、被覆率500%まで十分に可能であることを確認した。但し、後述の抗腫瘍効果の確認試験では、被覆率100%と500%とに差が殆ど現われなかったもので、光触媒コーティング層に抗腫瘍作用を発揮させる場合には、被覆率100%で十分であると考えられる。

【0011】上記のような本発明を図を用いて説明すると、図1に示すように、たとえば金粒子からなる光触媒担持用粒子1の表面に酸化物ゾルを使用したコーティングにより酸化チタン(TiO_2)の光触媒層2を形成し、この光触媒担持粒子を生体3の細胞4内、たとえば患部細胞4内に遺伝子導入装置を用いて打ち込む。打ち込み後に、適切な波長を有する紫外線等の光5を照射することにより、光触媒層2に光触媒活性、たとえばOHラジカル(OH^\cdot)を生成させることにより光触媒活性を発揮させ、それによって殺細胞効果や抗腫瘍効果を発揮させることが可能になる。

【0012】光触媒は所定粒径の粒子に担持されて生体内に打ち込まれるので、目標とする部位に対し、正確に効率よく注入されることになる。したがって、注入が望まれない他の部位に影響を及ぼすことなく、光触媒機能の発揮が要求される患部等に対してのみ効率よく注入されることになる。

【0013】所望の部位に正確に効率よく光触媒を注入し、光照射により目標とする光触媒機能を発揮させ、それによって殺細胞効果や抗腫瘍効果を発揮させることにより、癌や腫瘍に対する新しい治療やその治療に使用する医療器械等の開発に寄与することが可能になる。

【0014】

【実施例】本発明による効果を確認するために、以下のような試験を行った。すなわち、所定範囲の粒径を有する粒子への光触媒の担持の検討、および、光触媒担持粒子の光触媒活性を確認する試験を行った。次に、光触媒担持粒子による抗腫瘍効果を確認する試験を行った。

【0015】まず、光触媒担持用粒子として金微粒子(平均粒径:1.0 μm および1.6 μm)を使用し、光触媒として酸化チタン(日本アエロジル社製、P25)を使用して、その担持方法と光触媒活性の確認を行った。酸化チタン粒子のゾルと金粒子を混練法(乳鉢混練法)により分散剤を用いて混練し、金粒子の表面に酸化チタンコーティング層を形成して金粒子に酸化チタンを担持させることを試みた。試験は、粒径1.0 μm と1.6 μm の金粒子について行ったが、両者ともに金粒子への均一な担持に成功したものの、粒径1.0 μm の金粒子への担持の方が、各粒子に対しより均一に担持で

きた。これらの担持の様子は、SEM(走査型電子顕微鏡)による写真によって判定した。

【0016】これらSEMによる観察結果から、最も均一かつ粒子自体にも損傷が確認されない混合法は、1.0 μm の粒径の金粒子を用いて、エタノール分散液内での拡散が最も適切であることが分かった。

【0017】また、粒径1.0 μm の金粒子に酸化チタンを担持させた場合の活性を、メタノールと水の混合溶液からの水素発生により、評価した。結果を図2に示す。なお、図2において被覆率50%とは、金100mgに対し酸化チタンを0.3mg担持させた場合に相当し、被覆率100%とは、金100mgに対し酸化チタンを0.6mg担持させた場合に相当している。図2の縦軸は、試験に用いた容器における水素発生面積(cm^2)を表している。この結果から、光触媒活性を持った酸化チタン担持金粒子の作製に成功したと考えられる。

【0018】次に、酸化チタン担持金粒子(被覆率:100%)について、光触媒活性を測定、評価した。酸化チタン光触媒により特異的に分解される色素であるメチレンブルー(10^{-5}M)を1mlとり、それにDDW(蒸留水)1ml、酸化チタン担持微粒子濃度(20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)1ml、酸化チタン担持微粒子濃度(200 $\mu\text{g}/\text{ml}$)1mlを加えたものをそれぞれ作成した。これに紫外線(UV)光照射(360nm、10J/ cm^2)を5分間、10分間、15分間とそれぞれ行い、酸化チタン担持微粒子を高速遠心(15000rpm、5分)を行って取り除き、その後波長670nmの吸光度を測定しメチレンブルーの相対濃度の低下を測定した。結果を、図3に示した。図3から明らかな如く、酸化チタン担持金粒子においては、略光照射時間に比例してメチレンブルーが分解され、光触媒活性が確認された。

【0019】次に、光触媒としての酸化チタンの金粒子への担持量(被覆率)と光触媒活性との関係を、上記同様メチレンブルーを使用して、メチレンブルーの分解量で相対評価した。結果を図4に示す。図4に示すように、酸化チタンの担持量が多くなるほど、光触媒活性は増加した。また、被覆率500%の担持も十分に可能であることを確認できた。

【0020】次に、光触媒担持金粒子を生体内に打ち込み、光照射を行った場合の抗腫瘍効果について確認する試験を行った。

【0021】光触媒として、前記同様酸化チタン(P25、日本アエロジル社製)を使用し、それを粒径1.6 μm の金粒子に被覆率100%(金100mgに対し酸化チタン0.6mg被覆)で酸化チタンを担持させた。光照射用の光源としUV LIGHT SOURCE, UL200M(HOYA-SCHOTT)を使用し、色ガラスフィルタ(東芝社製)を用いて、波長360nmの光を取り出した。

【0022】担癌動物として、ヌードマウス（BALB/c雄）に、ヒト膀胱癌由来T24細胞を接種し腫瘍を形成させた後、直径約5～7mm程度となったときに使用した。

【0023】酸化チタン担持金粒子打ち込み装置として、遺伝子導入装置：（動物用）Helios Gene Gun（BIO-RAD）を使用した。この遺伝子導入装置を用い、酸化チタンを担持した金粒子を高圧ヘリウムガス（圧力300psi）によってショットガン的に腫瘍組織内に打ち込んだ。この方法により、ヌードマウス皮下の腫瘍は手術的に皮膚を切開し露出させた後、酸化チタン担持金粒子を打ち込んだ。

【0024】上記ヌードマウス移植腫瘍に対する評価を行った2回の実験結果を図5および図6に示す。これら結果から、UV（紫外線）光照射単独群、金粒子単独群、酸化チタン担持金粒子単独群および金粒子とUV光照射併用群に比べて、酸化チタン担持金粒子とUV光照射併用群では明らかに腫瘍の増殖が抑制された。

【0025】また、図7に、酸化チタンを金粒子に被覆率100%と500%で担持させた場合の抗腫瘍効果を比較した結果を示す。この結果から、抗腫瘍効果を発揮させるためには被覆率100%でほぼ十分であることが確認できた。

【0026】次に、培養細胞を用いた場合の殺細胞効果について試験した。使用細胞と培養方法および条件として、ヒト膀胱癌由来T24細胞をF12培地を使用し37℃、3.5%炭酸ガス培養器内で培養した。前述の抗腫瘍効果を確認するための試験と同じ酸化チタン担持金粒子を用い、細胞内への打ち込み装置として、ハンマー弾式遺伝子導入装置PIGG-3（日本医科器械製作所製）を使用した。

【0027】このハンマー弾式遺伝子導入装置を用い、ヘリウムガス（圧力9kgf/cm²）を用いて加速させたハンマー弾を上側から下側にある振動板の裏側にぶつけてやり、その衝撃により酸化チタン担持金粒子を射出した。この方法により酸化チタン担持金粒子を振動板下約3～5cm下におかれた培養細胞に打ち込んだ。

【0028】この培養細胞を用いた試験では、酸化チタ

ン担持金粒子単独およびUV光照射単独では殺細胞効果はほとんど見られなかったが、酸化チタン担持金粒子とUV光照射併用ではヒト膀胱癌細胞に対する殺細胞効果が認められた。

【0029】

【発明の効果】以上説明したように、本発明に係る光触媒の生体内への注入方法によれば、光触媒担持粒子を生体内に打ち込むことにより、目標とする部位に正確に効率よく注入することが可能となり、光照射により光触媒活性を発揮させることにより、明確な抗腫瘍効果や殺細胞効果を発揮させることが可能になる。その結果、この方法を用いることにより、新しい治療方法や、それに用いる医療器械や医療材料の開発が可能になる。

【0030】また、本発明に係る生体内への打ち込み粒子およびその製造方法によれば、上記のように生体内に注入される光触媒担持粒子を、効率よく作製でき、優れた抗腫瘍効果や殺細胞効果を発揮させることが可能になる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の光触媒の生体内への注入方法の一例を示す概略説明図である。

【図2】光触媒担持粒子の活性を水素発生により確認した試験結果を示すグラフである。

【図3】光触媒担持粒子の光触媒活性をメチレンブルーを用いて確認した試験結果を示すグラフである。

【図4】光触媒担持量とメチレンブルー分解量との関係図である。

【図5】抗腫瘍効果確認試験結果を示すグラフである。

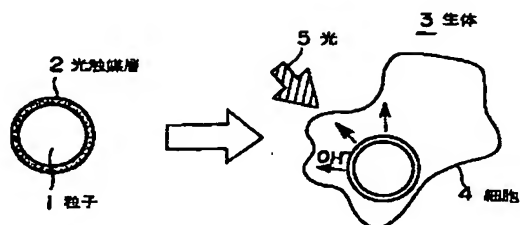
【図6】別の抗腫瘍効果確認試験結果を示すグラフである。

【図7】抗腫瘍効果と光触媒被覆率との関係を示すグラフである。

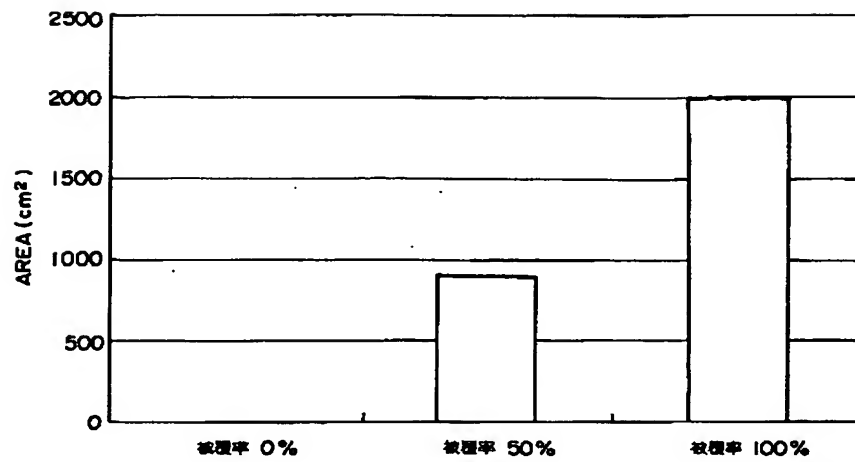
【符号の説明】

- 1 粒子（光触媒担持用粒子）
- 2 光触媒層
- 3 生体
- 4 細胞
- 5 光

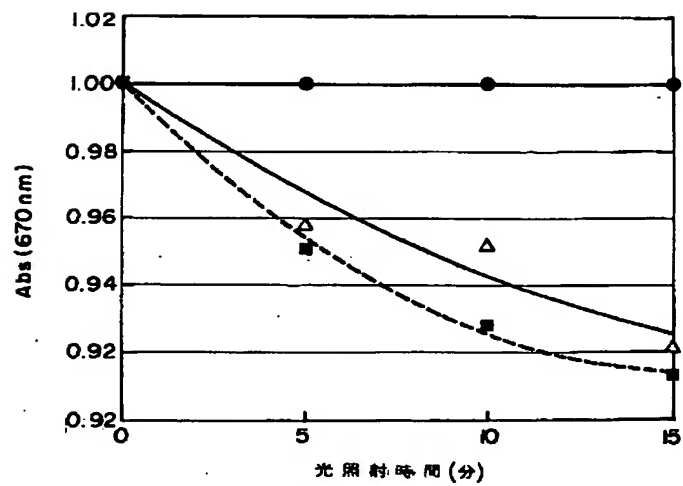
【図1】



【図2】

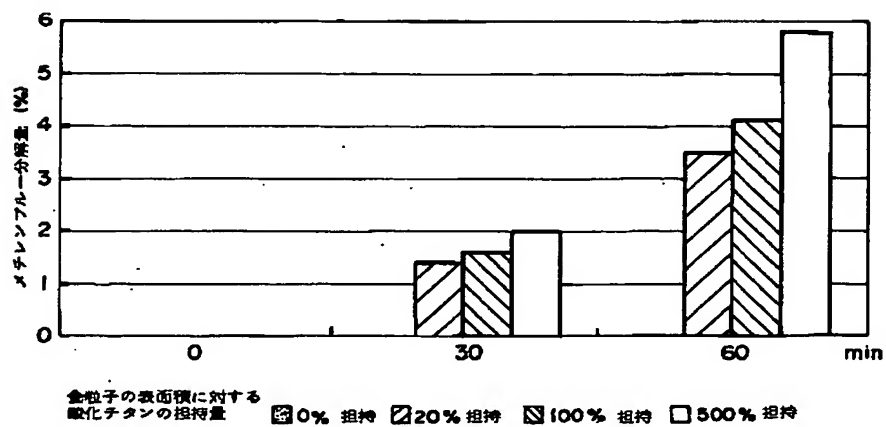


【図3】



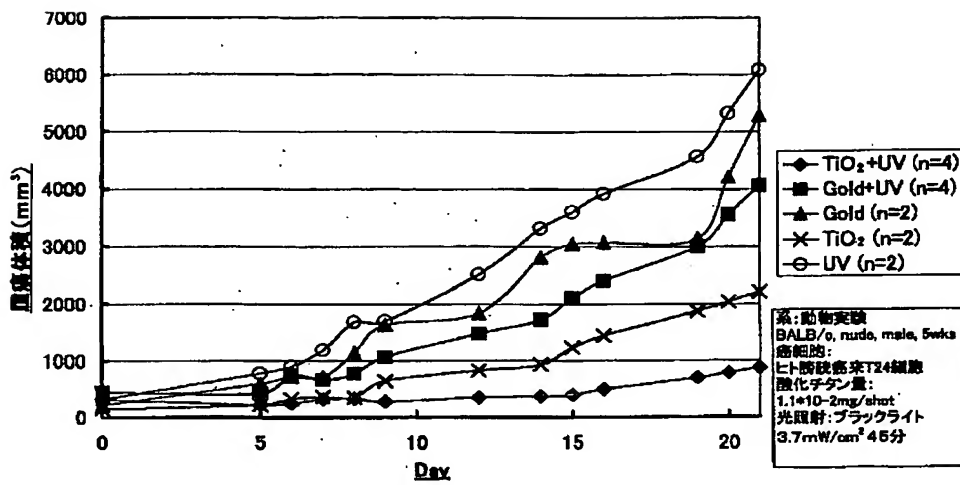
● Control, △ TiO₂ + Gold 10 μg/ml, ■ TiO₂ + Gold 100 μg/ml

【図4】

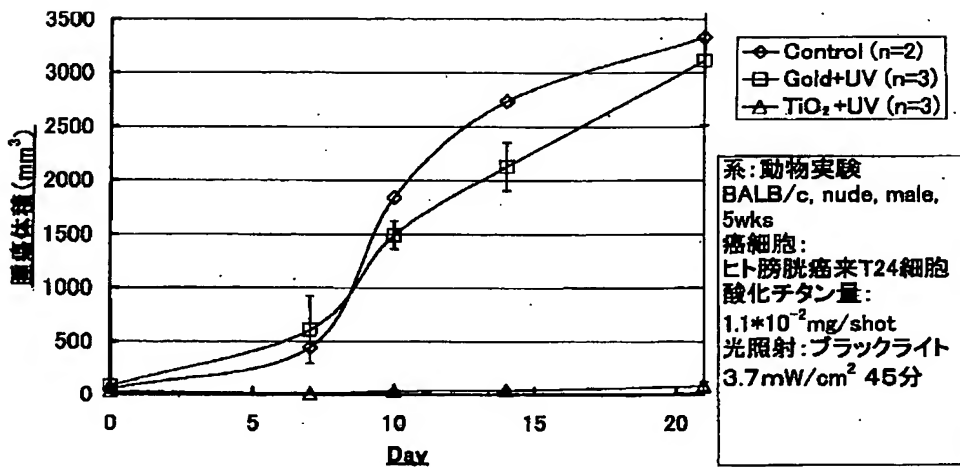


金粒子の表面積に対する酸化チタンの担持量
 □ 0% 担持 ▨ 20% 担持 ▩ 100% 担持 ■ 500% 担持

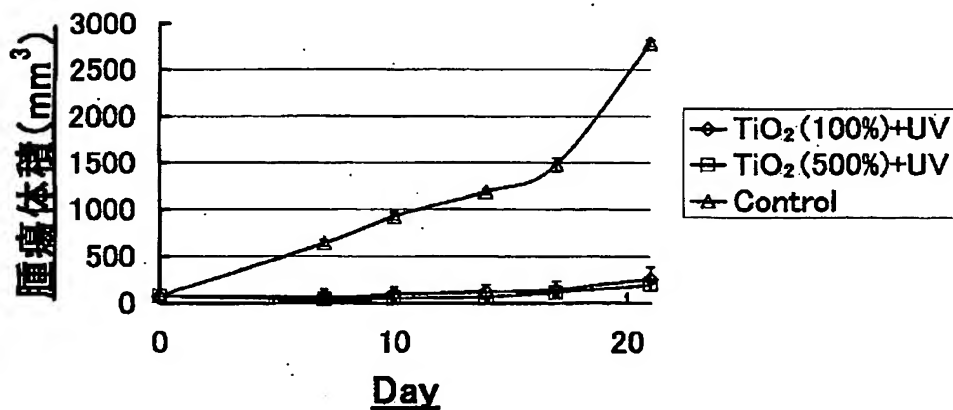
【図5】



【図6】



【図7】



フロントページの続き

(51)Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード (参考)
B O 1 J	23/52	B O 1 J	M
	35/02	35/02	J
(72)発明者	立間 徹	F ターム(参考)	4C076 AA29 BB32 CC27 CC50 DD21A
	東京都小平市喜平町 2-8-3-504		GG16
(72)発明者	大古 善久	4C084	AA01 AA02 AA03 AA11 BA33
	東京都豊島区池袋本町 3-21-15		CA62 MA43 MA67 NA05 NA06
(72)発明者	渡部 俊也		NA10 NA13 ZB262
	神奈川県藤沢市鵠沼海岸 6-15-7	4C086	AA01 AA02 HA06 HA21 MA02
(72)発明者	丹羽 智佐		MA05 MA43 MA67 NA10 NA14
	神奈川県横浜市港南区港南 2 丁目 26 番-12		ZB26
	号 上大岡リリエンハイム 207	4C167	AA80 CC04 DD10 GG26
		4G069	AA03 AA08 BA04A BA04B
			BA48A BA48C BC33B CC40
			DA05 FA02 FB23

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.